IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Persentase Tumbuh (%)

Hasil pengamatan terhadap persentase tumbuh (%) eksplan mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scfeff.)Boerl) pada semua perlakuan dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Tabel 1. Persentase tumbuh eksplan mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scfeff.)Boerl)

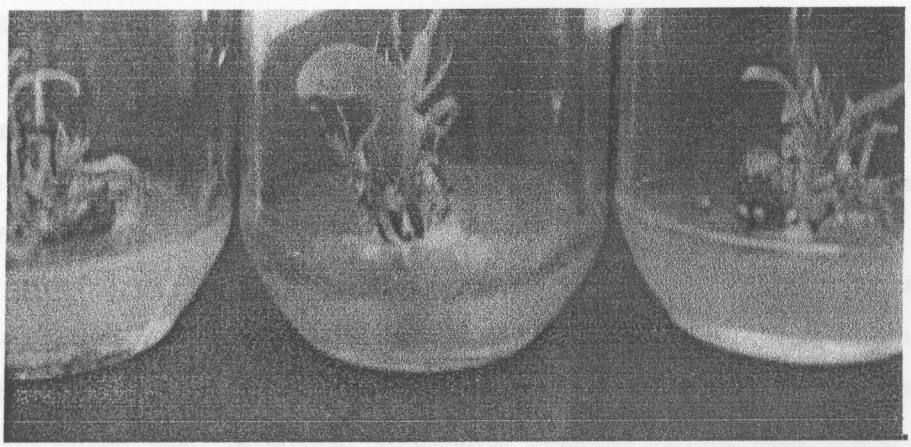
Perlakuan	Persentase tumbuh	Persentase kontaminasi
A	66,7	33,3
B	66,7	33,3
C	66,7	33,3
D	93,3	6,7
E	86,7	12,3
F	80,0	20
G	53,3	46,7
H	80,0	20
I	93,3	6.7

Dari tabel diatas menunjukkan hasil bahwa perlakuan BAP/NAA yang diberikan direspon oleh eksplan untuk tumbuh dengan variasi pertumbuhan atau deferensiasi tumbuh yang tidak berbeda.

Secara kuantitatif jumlah pertumbuhan yang tertinggi dari tiap-tiap perlakuan ditunjukkan pada perlakuan D (1mg/l BAP:2 mg/l NAA), I (6 mg/l BAP: 3 mg/l NAA), E (2 mg/l BAP: 4 mg/l NAA), F (3 mg/l BAP : 6 mg/l NAA), H (4 mg/l BAP: 2 mg/l NAA), A (2 mg/l BAP : 2 mg/l NAA), B (4 mg/l BAP : 4 mg/l NAA), C (6 mg/l BAP: 6 mg/l NAA) dan G (2 mg/l BAP: 1

mg/l NAA) dengan masing-masing persentase tumbuh eksplan mahkota dewa yang membentuk tunas sebagai berkut : 93,3%, 93,3%, 86,7%, 80%, 80%, 66,7%, 66,7%, 66,7%, 53,3%

Akan tetapi jika dilihat secara kualitatif berdasarkan ciri fisik eksplan yang tumbuh, maka pertumbuhan yang terbaik secara keseluruhan ditunjukkan pada perlakuan D (1 mg/l BAP : 2 mg/l NAA), E (2 mg/l BAP : 4 mg/l NAA) dan F (3 mg/l BAP : 6 mg/l NAA).



Gambar 4.1 Perkembangan eksplan terbaik pada perlakuan BAP/NAA dengan BAP lebih rendah pada tanaman Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scfeff.)Boerl)

Perlakuan BAP/NAA dengan konsentrasi BAP yang lebih rendah menghasilkan pembentukan tunas yang lebih baik dari semua perlakuan, ini ditunjukkan dengan batang tunas yang dihasilkan lebih besar, lebih banyak dan daun yang keluar juga banyak.

Menurut Santoso dan Nursandi (2004) bahwa sitokinin telah terbukti menstimulir terjadinya pembelahan sel, pembentukan tunas, mendorong proliferasi meristem ujung, menghambat pertumbuhan akar. Peningkatan pemberian taraf konsentrasi sitokinin lebih tinggi terbukti mempercepat partumbuhan eksplan dimana penambahan sitokinin memacu pembelahan sel dan menginduksi tunas lebih cepat. Hal ini mendukung bahwa pertumbuhan yang dipacu oleh BAP

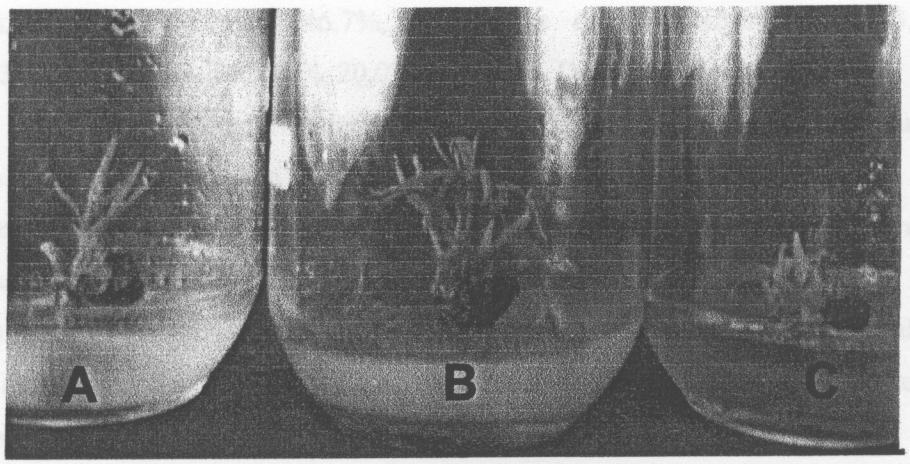
mencakup pengolahan dan pembesaran sel lebih cepat sehingga persentase tumbuh lebih baik.

Penambahan zat pengatur tumbuh dalam media merupakan salah satu faktor yang mampengaruhi keberhasilan kultur jaringan. Pada umumnya media perbanyakan secara invitro menggunakan zat pengatur tumbuh dari golongan sitokinin yang banyak digunakan untuk memacu pembentukan tunas dengan daya aktiftas yang kuat mendorong proses pembelahan sel (George dan Sherington,1984).

Kombinasi perlakuan BAP/NAA yang seimbang menunjukan pembentukan tunas yang tidak banyak, batang tunas tinggi tapi tidak besar atau tidak gemuk dan daun yang keluar tidak terlalu banyak, tidak juga membentuk kalus dan persentase tumbuhnya rendah diantara semua perlakuan (Gambar 4.2).

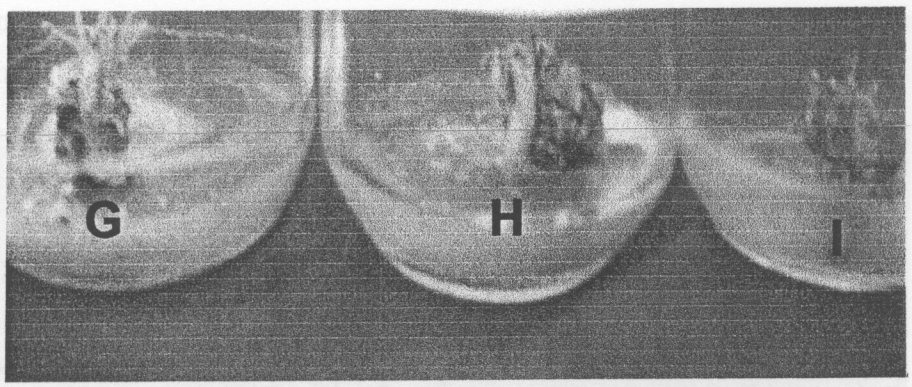
Menurut Abidin (1995) kombinasi pemberian BAP/NAA yang seimbang akan menunjukkan pertumbuhan kearah kalus. Hal senada juga dikatakan oleh Salisbury dan Ross, (1995) konsentrasi auksin (NAA) yang tinggi akan memacu pamanjangan akar, sedangkan konsentrasi sitokinin (BAP) yang tinggi akan menginduksi pertumbuhan tunas dan jika auksin dikombinasikan dengan sitokinin akan menginduksi pertumbuhan kallus.

Teori keseimbangan auksin dan sitokinin menyatakan bahwa bila konsentrasi antara auksin dan sitokinin di dalam jaringan eksplan yang dikulturkan dalam keadaan seimbang, maka akan terbentuk kalus. (George dan Sherington, 1984). Untuk menginduksi kalus lebih cepat diperlukan penambahan auksin dan sitokinin pada perimbangan yang tepat. Namun untuk setiap species atau bahkan kultivar membutuhkan auksin dan sitokinin dengan jenis dan konsentrasi yang berbeda. Tingginya konsentrasi auksin dan sitokinin dapat mendorong sel-sel untuk terus melakukan pembelahan dan pembesaran namun sel-sel yang tumbuh tidak terdeferensiasi secara sempurna, oleh karena itu eksplan yang dikulturkan tumbuh membentuk kalus (Hartamann, 1997)



Gambar 4.2 Perkembangan eksplan terbaik pada perlakuan BAP/NAA dengan konsentrasi seimbang pada tanaman Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scfeff.)Boerl)

Perlakuan BAP/NAA dengan konsentrasi BAP yang lebih tinggi menunjukan pertumbuhan tunas yang buruk. Tunas yang dihasilkan pendek daun yang keluar juga tidak banyak akan tetapi persentase pertumbuhannya tidak begitu buruk dibandingkan dengan perlakuan BAP/NAA yang konsentrasi perlakuannya (Gambar 4.3)



Gambar 4.3 Perkembangan eksplan terbaik pada perlakuan BAP/NAA dengan konsentrasi BAP lebih tinggi pada tanaman Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scfeff.)Boerl)

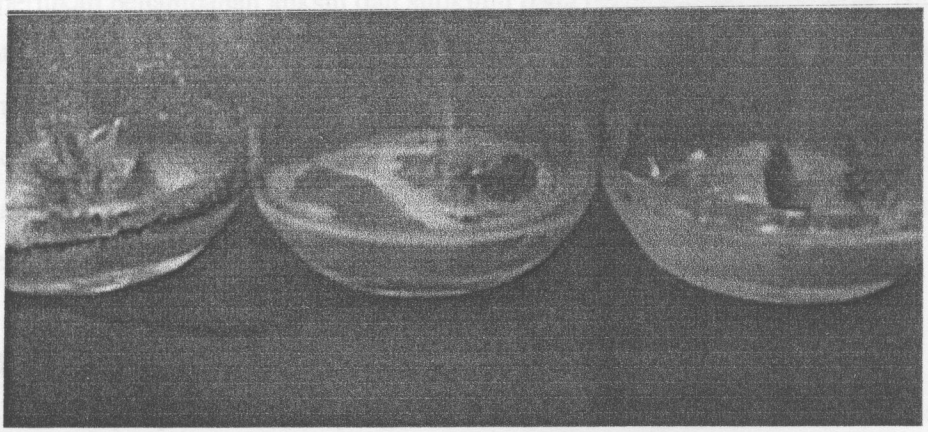
Untuk eksplan yang terkontaminasi dari tiap-tiap perlakuan didominasi perlakuan G yaitu 2 mg/l BAP : 1 mg/l NAA dengan jumlah persentase yang

terkontaminasi sebanyak 46,7%, selanjutnya diikuti konsentrasi A=33,3%, B=33,3%, C=5 unit, F=20,0%, 20,0%, E=12,3%, D= 6,7% dan I=6,7%.

Total eksplan keseluruhan yang mengalami kontaminasi termasuk banyak dan tidak bisa diacuhkan begitu saja. Penyebabnya bisa juga disebabkan oleh mikroorganisme endofilik (mikroorganisme yang hidup di dalam sel atau ruang antar sel tanaman) yang sering merupakan biota dari sel sumber eksplan dan sulit untuk diatasi dengan sterilisasi permukaan. Keadaan ini diakibatkan koloni bakteri sering tidak muncul pada saat eksplan baru dikulturkan pertama kali, tetapi beberapa minggu kemudian muncul koloni bakteri (Yusnita, 2003).

Sangat perlu diperhatikan penyebab kontaminasi pada eksplan. Selama pelaksanaan penelitian kontaminasi bisa disebabkan karena faktor lingkungan kerja yang kurang baik dan pelaksanaan proses pensterilan yang dilakukan kurang steril, sterilisasi media yang kurang sempurna, eksplan dan masuknya hewan atau serangga kecil ke dalam *laminar air flow* sebagai tempat penanaman atau masuk ke dalam botol kultur setelah diletakkan di ruang kultur. Jika prosedur kerja dari teknik kultur jaringan sudah dilaksanakan dengan baik kemungkinan eksplan untuk terkontaminasi akan minim (Gunawan,1995).

Faktor penghambat lain bisa juga disebabkan karena pengaruh senyawa fenolik. Senyawa fenol ini dapat bersifat toksik, sehingga menghambat pertumbuhan atau bahkan dapat mematikan jaringan eksplan (Yusnita, 2003).



Gambar 4 4. Eksplan yang terkontaminasi dari semua perlakuan pada tanaman Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scfeff.)Boerl)

4.2 Pembentukan Kalus

Menurut Gunawan (1987), Kalus merupakan suatu kumpulan sel amorphus yang terjadi dari sel-sel jaringan awal yang membelah diri terus menerus, dan di dalam kultur invitro dapat dihasilkan dari potongan organ yang telah steril dalam media yang mengandung ZPT. Terbentuknya kalus dalam kultur in vitro dipengaruhi oleh faktor genotip, media, lingkungan tumbuh (suhu dan cahaya), fisiologi jaringan tanaman dan bagian tanaman yang dipakai (Gunawan, 1988).

Tiga bulan masa penelitian yang dilakukan oleh peneliti, akan tetapi selama pengamatan visual tidak ditemukan adanya pertumbuhan kalus. Ini menunjukkan suatu yang berbeda dengan hasil hasil penelitian yang dilakukan oleh peneliti peneliti lain yang menggunakan sampel yang sama dan zat pengautr tumbuh yang sama pula.

Dapat ditarik kesimpulan penyebab tidak tumbuhnya kalus karena konsenterasi yang diberikan sebagai perlakuan di masing-masing taraf masih terlalu rendah sehingga tidak mampu untuk membentuk kalus seperti yang diharapkan. Jika konsentrasi perlakuan yang diberikan sesuai dengan kebutuhan eksplan untuk tumbuh maka ada kemungkinan peluang untuk kalus tumbuh.

Teori keseimbangan auksin dan sitokinin menyatakan bahwa bila konsentrasi antara itokinin dan auksin di dalam jaringan eksplan yang dikulturkan dalam keadaan seimbang, maka akan terbentuk kalus. (George dan Sherington, 1984). Ditambahkan Hartamann (1997) untuk menginduksi kalus lebih cepat diperlukan penambahan auksin dan sitokinin pada perimbangan yang tepat. Namun untuk setiap species atau bahkan kultivar membutuhkan auksin dan sitokinin dengan jenis dan konsentrasi yang berbeda. Tingginya konsentrasi auksin dan sitokinin dapat mendorong sel-sel untuk terus melakukan pembelahan dan pembesaran namun sel-sel yang tumbuh tidak terdeferensiasi secara sempurna, oleh karena itu eksplan yang dikulturkan tumbuh membentuk kalus.

4.3 Pembentukan Penggandaan Pucuk / Tunas

Zat pengatur tumbuh yang berperan pada induksi tunas adalah sitokinin sintetik Benzyl Adenin Purin (BAP). Pada tabel pengamatan terlihat bahwa semua konsentrasi BAP/NAA yang ditambahkan pada media kultur direspon eksplan membentuk tunas.

Tabel 2. Respon Eksplan Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa* (Scfeff.)Boerl) Secara In Vitro Akibat Pemberian BAP/NAA Terhadap Penggandaan Pucuk / Tunas.

Perlakuan	Jumlah Pucuk/Tunas
A	30
B	30
C	30
D	40
E	39
F	38
G	29
H	38
I	40

Dari tabel diatas dapat dilihat hasil yang menunjukkan pertumbuhan tunas yang terbaik terdapat pada perlakuan D dan I dengan jumlah masing masing 40, dan diikuti perlakuan E dengan jumlah 39, selanjutnya F dan H dengan jumlah 37,5 selanjutnya A, B, C jumlah masing - masing 30 dan terakhir G dengan jumlah 28,5

Menurut Salisbury dan Ross (1995), Benzyl Amino Purin (BAP) yang terkandung dalam sitokinin akan memacu pembelahan sel secara periklinal dan antiklinal sehingga terjadi pertumbuhan primordia tunas. Marlin (2005) menambahkan bahwa peningkatan pemberian taraf konsentrasi sitokinin ke dalam media kultur akan mempercepat pertumbuhan tunas.

Hal yang sama dinyatakan Krikorian (1995), penambahan sitokinin memacu pembelahan sel, menginduksi tunas lebih cepat. Hal ini mendukung bahwa pertumbuhan yang dipacu oleh BAP mencakup pembelahan dan pembesaran sel yang lebih cepat.

Santoso dan Nursandi (2004), bahwa sitokinin telah berhasil menstimulir terjadinya pembelahan sel, pembentukan tunas, mendorong proliferasi meristem

ujung, menghambat pertumbuhan akar, mendorong pembentukan klorofil pada kalus.

Dari hasil uji dengan menggunakan kramotografi lapis tipis (KLT) ini di dapati bahwa kandungan zat aktif alkoloid, saponin, flavanoid dan polifenol yang terkandung pada tanaman induk masih dimiliki pada plantlet yang dihasilkan dari teknik kultur jaringan (Gambar 4.6).

Secara kuantitas adapun nilai Rf dari tiap-tiap perlakuan yang menandai kandungan bahan metabolik sekunder yang dikandung tanaman mahkota dewa secara in vitro yang mendekati dengan tanaman induk sesuai dengan urutan taraf perlakuan dapat dilihat pada tabel 3 dibawah :

Tabel 3. Nilai Rf dari tiap-tiap perlakuan.

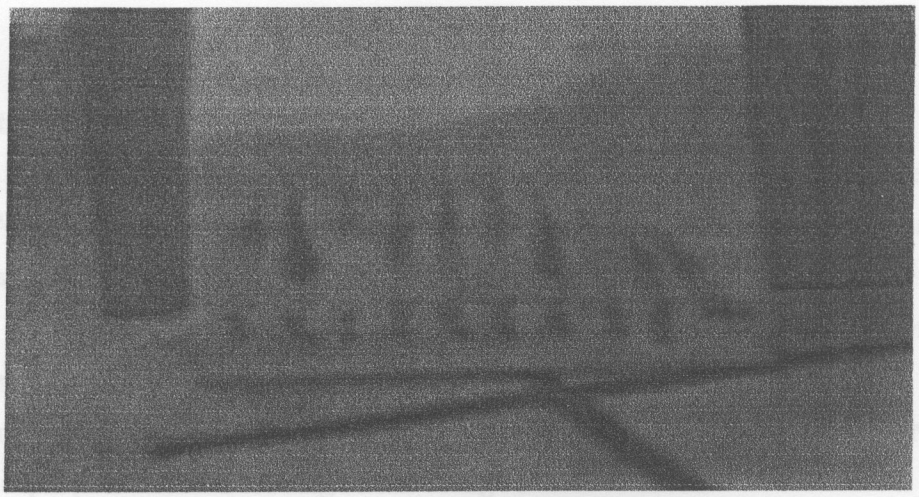
Perlakuan	A	B	C	D	E	F	G	H	I	Ktrl
Nilai Rf	0,4	0,2	0,2	0,2	0,5	0,2	0,2	0,2	0,2	0,6

Pada taraf perlakuan D (1mg/l BAP : 2 mg/l NAA) zat aktif yang terkandung terlihat hampir sama dengan tanaman induk, ini karena konsentrasi zat pengatur tumbuh yang diberikan sebagai perlukuan seimbang dengan kebutuhan eksplan untuk tumbuh sempurna, sehingga sel-sel yang dihasilkn pada eksplan semakin banyak dan bila sel-sel yang dihasilkan semakin banyak maka akan semakin banyak pula bahan metabolik sekunder yang dihasilkan, seperti yang dikemukakan Thamas et al (1996) dalam Mahadi bahwa semakin banyak sel yang dihasilkan kemungkinan semakin banyak pula bahan metabolik sekunder yang dihasilkan.

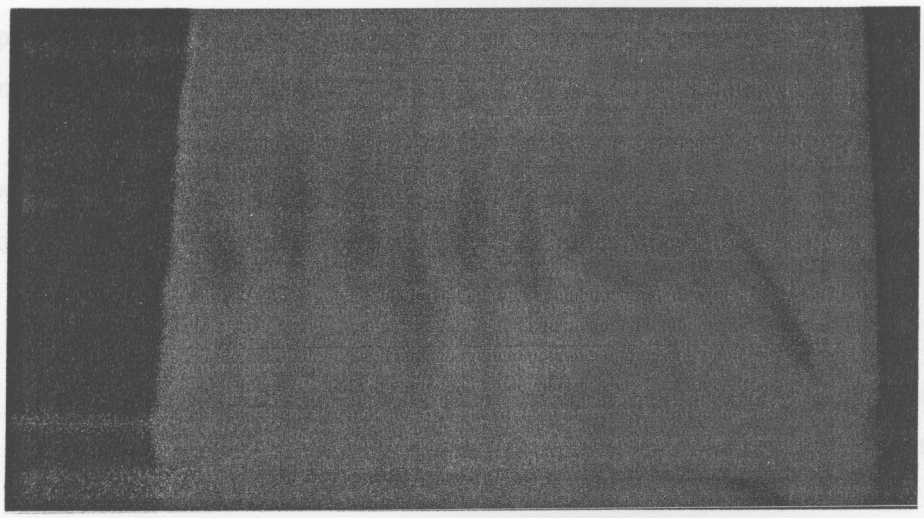
Meskipun tumbuhnya eksplan membentuk tunas belum sempurna hingga membentuk akar akan tetapi proses pembentukan dan pembelahan sel berlangsung dengan baik, sehingga sintesis metabolik sekunder juga terus terjadi. Harborne (1987) mengemukakan kebanyakan bahan metabolik sekunder disintesis dalam organ-organ tertentu, tetapi penumpukannya sering ditemui dalam organ-organ yang lebih spesifik seperti sel kelenjar, trikom, dalam vokvol sel parenkim dan pada sel-sel yang telah mengalami deferensiasi.

Berdasarkan berbagai jurnal ilmiah Javanessee 2006, dari beberapa manfaat mahkota dewa didapati setelah melalui berbagai proses pengujian sebagai berikut:

- Pengujian aktiftas antikanker ekstrak dari tanaman mahkota dewa dilakukan dengan menguji daya hambat pertumbuhan sel Leukimia L210 oleh ekstrak tanaman secara in vitro. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak tanaman memiliki nilai hambat pertumbuhan 50% dari sel Leukimia setelah masa inkubasi 48 jam. Batas minimal satu ekstrak tanaman untuk dapat dinyatakan berpotensi sebagai suatu antikanker adalah 10 ug/ml (Lisdawati, 2002).
- Pengujian aktifitas antioksidan ekstrak tanaman Mahkota Dewa menunjukkan daging buah dan kulit biji tanaman memiliki aktifitas antioksidan yang cukup potensial (Yen,1995)
- Hasil uji efek antihistamin/anti-alergi, ternyata bahwa masing-masing kadar ekstrak daun/buah mahkota dewa mempunyai efek antihistamin (Sumastuti, 2001).
- Efek sitosik daun dan buah mahkota dewa terhadap sel Hela (sel kanker rahim) secara In Vitro. Efek hipoglikemik (penurun gula darah) daun buah mahkota dewa. Efek hepatoprotektor (hati). Efek anti radang (anti inflamasi) dari daun dan buah mahkota dewa. Efek anti bakteri pada Staohylococcus sp dan Streptococcus sp
- Selain itu, penelitian yang sedang berjalan tentang efek mahkota dewa terhadap kesehatan; efek anti piretik (menurunkan panas), efek analgesic (mengurangi rasa sakit), efek menurunkan kadar asam urat dalam darah, kardiovaskuler (efek pada jantung, hipertensia, diuretic), bahan antiobesitas, anti hypercholesterolemia, efek anti kejang, efek penenang, antioksidan.



Gambar 4.5 Perjalananan noda pada plat KLT yang dilihat secara visual.



Gambar 4.6 Perjalanan noda pada plat KLT yang dilihat dengan sinar ultraviolet gelombang pendek 254 nm.

Ket. Urutan taraf perlakuan dari kiri ke kanan : A, B, C, D, E, F, G, H, I, Kontrol